

Aus der Frauenklinik der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. R. Buchholz

DER EMT (= ELECTROPHORETIC MOBILITY TEST)
IN DER DIAGNOSTIK DES MAMMA-CA.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von —

GABRIELE MARTINA WALCH
—
aus Lemgo

Marburg 1977
—

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Frauenklinik der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. R. Buchholz

DER EMT (= ELECTROPHORETIC MOBILITY TEST)
IN DER DIAGNOSTIK DES MAMMA-CA.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

GABRIELE MARTINA WALCH

aus Lemgo

Marburg 1977

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 28. Januar 1977

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. F. Neurath

Referent: Dr. med. habil. Mühlberger

Correferent: Prof. Dr. rer. nat. Ax

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
VERSUCHSPERSONEN, METHODE, MATERIAL	5
I) VERSUCHSPERSONEN	5
II) ANTIGEN	6
III) INDIKATORPARTIKEL	6
IV) LYMPHOZYTENISOLIERUNG	7
V) LYMPHOZYTEN-INKUBATION	8
VI) O-STANDARD	9
VII) MESSUNG DER BEWEGLICHKEIT DER ETS IM ELEKTRISCHEN FELD	9
a) Prinzip des Cytopherometers	9
b) Wanderungsgeschwindigkeit der ETS	10
c) Störquellen	10
VIII) BERECHNUNGEN	14
TABELLEN	16
GRAPHIKEN	22
ERGEBNISSE	24
1) prä-operative Untersuchungen	25
2) post-operative Untersuchungen	26
DISKUSSION	28
I) Allgemeines	28
II) Prä-operative Ergebnisse im EMT in der "Mastopathie"-Gruppe	34
III) Prä-operative Ergebnisse im EMT in der Karzinom-Gruppe	35

IV) Vergleich der prä- und post- operativen Reaktivität von Lymphozyten in der "Mastopathie- II-III-Gruppe und in der Ca-Gruppe"	37
ZUSAMMENFASSUNG	41
LITERATURVERZEICHNIS	42

EINLEITUNG

Einen möglichen Beitrag zur Diagnostik maligner Tumoren bedeutet der von CASPARY und FIELD 1970 entwickelte MEM-Test (macrophage electrophoretic mobility test), der darauf beruht, daß Lymphozyten von Patienten mit malignen Tumoren nach Inkubation mit EF (encephalitogenic factor), einem basischen Protein von histonähnlichem Charakter (5, 6, 37), einen sog. slowing factor produzieren, der die Wanderungsgeschwindigkeit von Meerschweinchen-Peritonealmakrophagen im elektrischen Feld verlangsamt (20).

Die Arbeitshypothese des Versuches ist die (24), daß alle malignen Tumoren als Antigen basisches Protein auf ihrer Zelloberfläche besitzen (8, 10, 15, 16, 17), dessen determinante Gruppen denen des EF immunologisch nahe verwandt sind und deshalb zu immunologischen Kreuzreaktionen Anlaß geben.

Im MEM-Test läßt sich eine Sensibilisierung der Lymphozyten von Tumor-Patienten gegen EF, CaBP (= cancer basic protein) und PPD (= purified protein derivative of the tuberculin bacillus) nachweisen (24, 65). Nach SHAW et al. scheint die Sensibilität der Lymphozyten gegen die drei basischen Proteine auf antigener Verwandtschaft zu beruhen und nicht auf der elektrischen Oberflächenladung der Proteine, da SHAW et al. bei Verwendung anderer

basischer Proteine wie Cytochrom c, Lysozym und Histon F2A als Antigen eine Reaktivität der Lymphocyten im MEM-Test nicht nachweisen konnten. (Über die antigene Verwandtschaft von Histonen mit EF werden in der Literatur widersprüchliche Ansichten geäußert (5, 6, 37, 65)). Die Sensibilisierung von Lymphocyten gegen Tumorantigen läßt sich daher in vitro durch Verwendung von EF als Antigen nachweisen. Die Hypothese wird durch Versuche belegt, bei denen korrelierende Ergebnisse erzielt werden bei Bestimmung der Sensibilität von Lymphocyten von Tumor-Patienten gegen basisches Tumorprotein und gegen EF als Antigen. (Das basische Tumorprotein wird aus Tumorgewebe nach dem gleichen Verfahren extrahiert wie EF aus Hirngewebe (8, 24)).

Die Ergebnisse des MEM-Testes werden in unabhängigen Untersuchungen u.a. von PRITCHARD (56), PREECE (55), KLAUSCH (39, 40), IRMSCHER (33) und JENSSEN (36) bestätigt. Der MEM-Test erscheint IRVINE et al. (1974) (43) in seiner jetzigen Form nicht reproduzierbar; er räumt jedoch ein, daß seine negativen Erfahrungen auf Schwierigkeiten mit dem recht komplizierten Untersuchungsverfahren beruhen könnten. Die Methode wird von PORZSÖLT, TAUTZ und AX (52) dadurch modifiziert, daß anstelle von Peritonealmakrophagen, die mühsam zu gewinnen sind, eine kurze Haltbarkeit besitzen und im elektrischen Feld

verformbar sind, Hammelerythrozyten verwendet werden, die durch Tannierung und Stabilisierung mit Sulfosalizylsäure eine Formkonstanz im elektrischen Feld zeigen und eine lange Haltbarkeitsdauer besitzen (EMT = electrophoretic mobility test). JENSSEN und SHENTON (35) untersuchten nachfolgend die Verwendbarkeit von nur tannierten Hammelerythrozyten als Indikatorpartikel und bestätigen, daß auf diese Weise einige Schwierigkeiten beseitigt werden können, die bei Verwendung von Meerschweinchen-Peritonealmakrophagen auftreten. Die Meerschweinchen-Makrophagen dürfen nur von gesunden, nicht-sensibilisierten Tieren gewonnen werden (27). Sie stellen eine von der Morphologie her heterogene Zellpopulation dar, aus der nach bestimmten Kriterien ein Zellkollektiv ausgewählt werden muß (27, 66). Außerdem enthält das Peritonealexsudat der Meerschweinchen noch Meerschweinchen-Lymphozyten, die zur sog. mixed lymphocyte reaction mit menschlichen Lymphozyten führen können. Sulfosalizylsäure-stabilisierte und tannierte Hammelerythrozyten stellen dagegen recht einheitliche, reproduzierbare Indikatorpartikel dar.

Bei positiven Ergebnissen im MEM-Test (bzw. EMT), die bei Personen ohne klinisch erfaßbaren Tumor auftreten, wird u.a. diskutiert, ob maligne Erkrankungen lange vor ihrem Manifestwerden im MEM-Test (EMT) erfaßbar sind (21, 51, 58). PORZSOLT, MÜHLBERGER und AX

(47, 51) zeigen anhand der Untersuchung von Patientinnen mit verschiedenen Stadien von Veränderungen am Collum uteri, daß schon bestimmte Übergangsstadien vom Gesunden zum Malignen im EMT erfaßbar sind (vgl. auch 67).

In der vorliegenden Arbeit wird die Reaktivität der Lymphozyten von Patientinnen gegenüber EF untersucht, die wegen eines verdächtigen Befundes an der Mamma auf Grund klinischer, mammographischer und zytologischer Befunde zur operativen Abklärung in die Klinik aufgenommen worden sind. Das Ergebnis des EMT wird mit den postoperativen histologischen Befunden verglichen, die insgesamt Übergänge von "benignen" zu "malignen" Stadien beinhalten. Weiter wird die Sensibilisierung der Lymphozyten verglichen, die sie präoperativ und zwischen dem 2. und 6. postoperativen Tag gegenüber EF zeigen.

VERSUCHSPERSONEN, METHODE, MATERIAL

I) VERSUCHSPERSONEN

Von insgesamt 40 nicht ausgewählten Patientinnen, die zur operativen Abklärung eines verdächtigen Befundes an der Mamma in die Klinik aufgenommen worden waren, wurden prä-operativ und zwischen dem 2. und 6. post-operativen Tag jeweils 25 ml Blut abgenommen. Es wurde prä-operativ nur Blut von noch nicht narkotisierten Patientinnen untersucht, um evtl. Einflüsse von Narkotika auf das Versuchsergebnis auszuschließen. Im wesentlichen wurden Blutproben von Patientinnen aus der Universitäts-Frauenklinik Marburg untersucht. 4 Blutproben kamen von der gynäkologischen Abteilung des Diakoniekrankenhauses Wehrda, 7 Blutproben aus der Chirurgischen Universitätsklinik Gießen.

Die angewandten ANÄSTHESIEVERFAHREN waren:

a) Halothan-Narkose:

Trapanal^R (200-250 mg) und Succinylcholin (75-100 mg) zur Intubation.

Fortführung mit N_2O-O_2 (im Verhältnis 2,0 : 1,0 l/min) mit Zusatz von 0,3 - 0,7 Vol % Halothan und 2-20 mg Alloferin.

b) Neurolept-Analgesie (NLA):

Trapanal^R (125-200 mg) und Succinylcholin (75-100 mg) zur Intubation. N₂O-O₂-Zufuhr wie oben angegeben. Zusätzlich Dehydrobenzperidol (10-25 mg) und Fentanyl (0,05-0,1 mg alle 30 min) sowie Alloferin (2 mg alle 20-30 min).

Zur Kontrolle werden Lymphozyten von 20 jungen gesunden weiblichen und männlichen Personen getestet.

II) ANTIGEN

Als Antigen wird der encephalitogenic factor (EF) verwendet, ein Chloroform-Methanol-Extrakt aus menschlichem Gehirn, das in den Behring-Werken Marburg nach dem Verfahren von CASPARY und FIELD (17) hergestellt worden ist.

Es wird eine Lösung hergestellt, die 0,3 mg EF pro 1,0 ml RPMI 1640 ohne Zusatz von fetalem Kälberserum enthält. RPMI 1640 ist ein synthetisches GewebekulturmEDIUM, das 25 mM Hepes und L-Glutamine enthält. (RPMI 1640, GIBCO BIO-CULT, Glasgow).

III) INDIKATORPARTIKEL

Indikatorpartikel sind Hammelerythrozyten, die tanniert und mit Sulfosalizylsäure stabilisiert worden sind (ETS = Erythrozyten, tanniert, Sulfosalizylsäure-stabilisiert). Die ETS wurden in den Behring-Werken

Marburg hergestellt (2, 52).

5×10^7 ETS werden in 1,0 ml HANKS, einer physiologischen Elektrolytlösung, suspendiert.

IV) LYMPHOZYTENISOLIERUNG

Aus jeweils 25 ml heparinisiertem Blut werden die Lymphozyten mit Hilfe eines Dichtegradienten gewonnen (19, 46):

1) 30 ml FICOLL II ($\rho = 1,119 \text{ g/ml}$)

werden mit 30 ml FICOLL I ($\rho = 1,077 \text{ g/ml}$) überschichtet.

Herstellung der FICOLL-ISOPAQUE-Lösung:

FICOLL I ($\rho = 1,077 \text{ g/ml}$):

80 ml Ronpacon 33,9 %ig (40 ml 75 %ig Ronpacon + 48,4 ml Aqua dest.) + 192 ml FICOLL 9 %ig.

FICOLL II ($\rho = 1,119 \text{ g/ml}$):

90 ml Ronpacon 50 %ig (60 ml 75 %ig Ronpacon + 30 ml Aqua dest.) + 180 ml FICOLL 9 %ig.

2) Die FICOLL-I-Lösung wird mit Blut überschichtet, das mit HANKS im Verhältnis 1:2 verdünnt ist.

3) Durch 20-minütiges Zentrifugieren bei 800 g erfolgt die Trennung der zellulären Bestandteile des Blutes:

- a) die Erythrozyten sinken auf den Boden des Reagenzglases in die FICOLL-II-Schicht ab.
 - b) Zwischen FICOLL II und FICOLL I reichern sich die Granulozyten und Monozyten an.
 - c) Zwischen FICOLL I und Blutplasma befinden sich die Lymphozyten, die mit 1-5 % Granulozyten und Monozyten verunreinigt sind.
- 4) Die isolierten Lymphozyten werden 3 x mit HANKS gewaschen und anschließend unter dem Mikroskop ausgezählt.
- 5) Eine Suspension von 1×10^7 Lymphozyten in 1 ml RPMI 1640 wird anschließend hergestellt.

V) LYMPHOZYTEN-INKUBATION

0,7 ml einer Lymphozytensuspension, die 1×10^7 Zellen in 1 ml RPMI enthält, werden mit 3,0 ml EFLösung bei einer Temperatur von $T = 37^{\circ} \text{C}$ und einem P_{H} von 7,2 20 Stunden inkubiert. Nach der Inkubation werden die Lymphozyten abzentrifugiert. Der Überstand wird mit ETS (5×10^7 ETS/ml) (Volumenverhältnis 3:1) bei Zimmertemperatur 90 min inkubiert.

VI) O-STANDARD

Für jede Testserie wird als Bezugsgröße eine Mischung aus 3,0 ml RPMI und 1,0 ml ETS hergestellt, die bei Zimmertemperatur 90 min inkubiert wird.

VII) MESSUNG DER BEWEGLICHKEIT DER ETS IM ELEKTRISCHEN FELD

Die elektrophoretische Beweglichkeit von ETS wird im Zellelektrophoresegerät (= Cytopherometer) gemessen (Fa. ZEISS, Oberkochen).

a) Prinzip des Cytopherometers (29, 64)

Das Cytopherometer ist ein Elektrophoresegerät, das zur Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit von geladenen suspendierten Teilchen im elektrischen Feld dient. Die Zellsuspension wird in eine temperierte rechteckige gläserne Meßküvette eingefüllt, die mit einem Mikroskop eingesehen werden kann. Über Platinelektroden, die in HANKS-Lösung tauchen, wird ein elektrisches Feld angelegt. Durch Membranfilter wird das Eindringen von Elektrolyseprodukten in die Zellsuspension verhindert. Das Meßsystem wird seitlich durch Schlauchklemmen verschlossen (s. Abb. 1).

Die Wanderungsgeschwindigkeit geladener Teilchen ist neben ihrer Größe, dem Molekulargewicht, der angeleg-

ten Feldstärke und der Konzentration der gelösten Teilchen von dem Zetapotential, dem elektro-phoretisch meßbaren Äquivalent der Oberflächenladung, abhängig (29). Variable Größe bei den vorliegenden Versuchen ist die Oberflächenladung der ETS, die bei unbehandelten ETS negativ ist und durch den sog. slowing factor verändert wird (52).

b) Wanderungsgeschwindigkeit der ETS:

Die Wanderungsgeschwindigkeit der ETS wird in der sog. stationären Ebene der Meßküvette bestimmt, in der die elektrische Beweglichkeit vom Flüssigkeitsstrom unbeeinflusst bleibt. Mit Hilfe einer Stoppuhr mit Schleppzeiger wird bei einer Stromstärke von $I = 5 \text{ mA}$, einer Spannung von $U = 100\text{--}120 \text{ V}$ und einer Temperatur von $T = 25^{\circ} \text{ C}$ die Zeit a gemessen, die eine Zelle benötigt, um ein Quadrat der Länge l im Netzmikrometer in waagerechter Richtung zu durchlaufen und die Zeit b , die die Zelle benötigt, um nach Umpolung der Elektroden an ihren Startpunkt zurückzukehren. Differenzen zwischen den Zeitwerten a und b , die mehr als 5 % betragen, sind auf Strömungen zurückzuführen und werden deshalb nicht gewertet. Pro Probe und o-Standard werden 10 ETS gemessen.

c) Störquellen:

1) Die Temperatur der Meßkammer muß konstant gehalten werden, um das Auftreten von Konvektions-

strömen zu verhindern.

2) Die Elektroden müssen ein geschlossenes System darstellen; bei offenem System entstehen Stör- und Schaukelströmungen in der Meßküvette. Sie müssen unpolarisierbar sein. Es dürfen keine Gase frei werden, da sie durch Raumverdrängung Störströmungen hervorrufen (64). Das Elektrodensystem muß durch Membranfilter so von der Zellsuspension in der Meßküvette getrennt sein, daß das Eindringen von Elektrolyseprodukten in die Zellsuspension verhindert wird.

3) Die Meßkammer muß luftfrei gefüllt werden.

4) Die Messung der Wanderungsgeschwindigkeit der Indikatorpartikel muß in der stationären Ebene erfolgen, da nur hier keine Flüssigkeitsströmung auftritt (29).

5) Die Einfüllöffnungen des Meßsystems müssen gleichfest verschlossen sein, um ein Strömen der Indikatorpartikel zu verhindern. Bei den Versuchen werden Schlauchklemmen mit Schraubverschluß verwendet, die eine Feinregulierung des Verschlusses ermöglichen.

6) Das Meßsystem muß gut gesäubert sein, um das Auftreten geladener Teilchen an der Kammerwandung zu vermeiden.

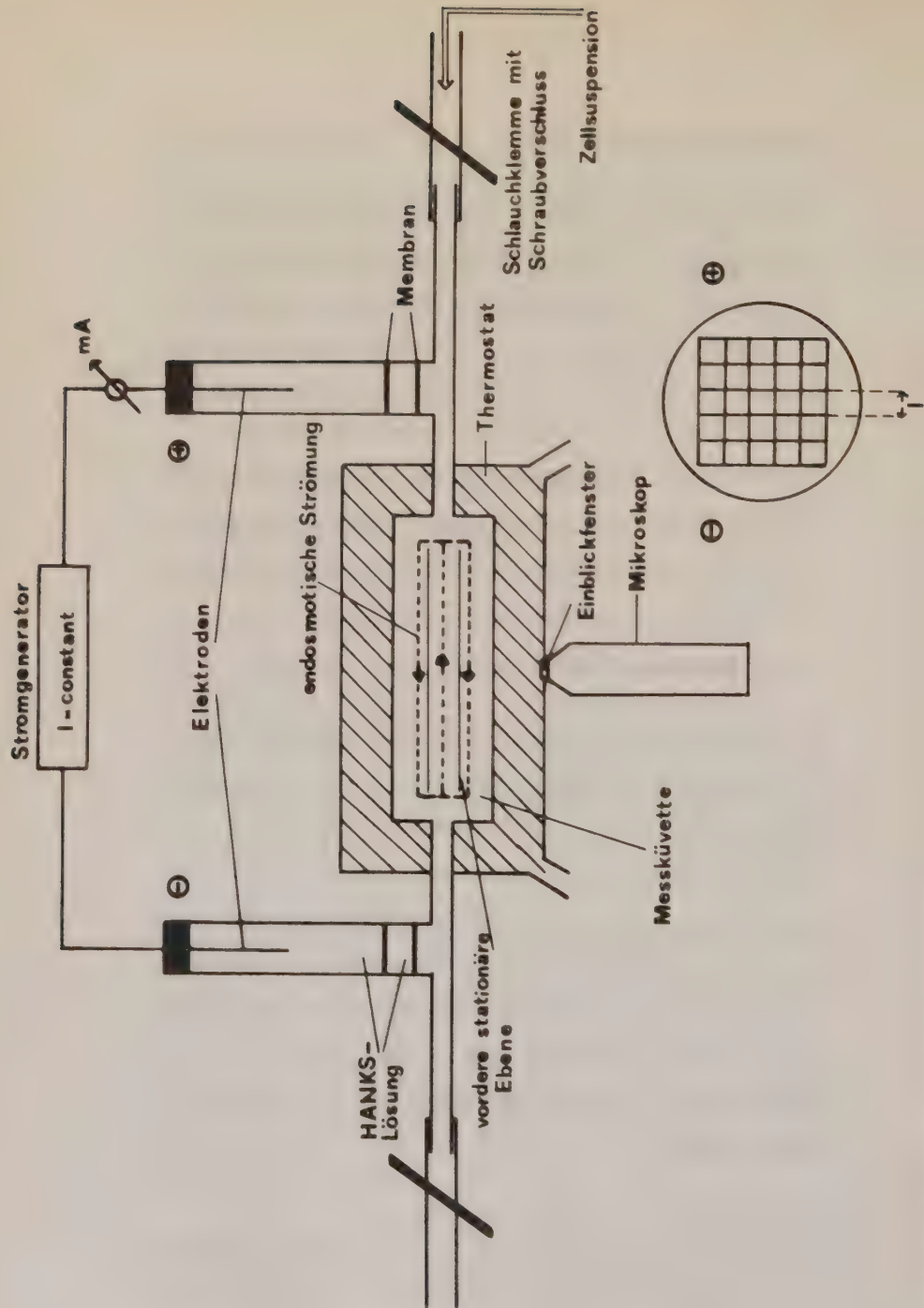


Abb. 1 vereinfacht nach FRIEMEL (29)

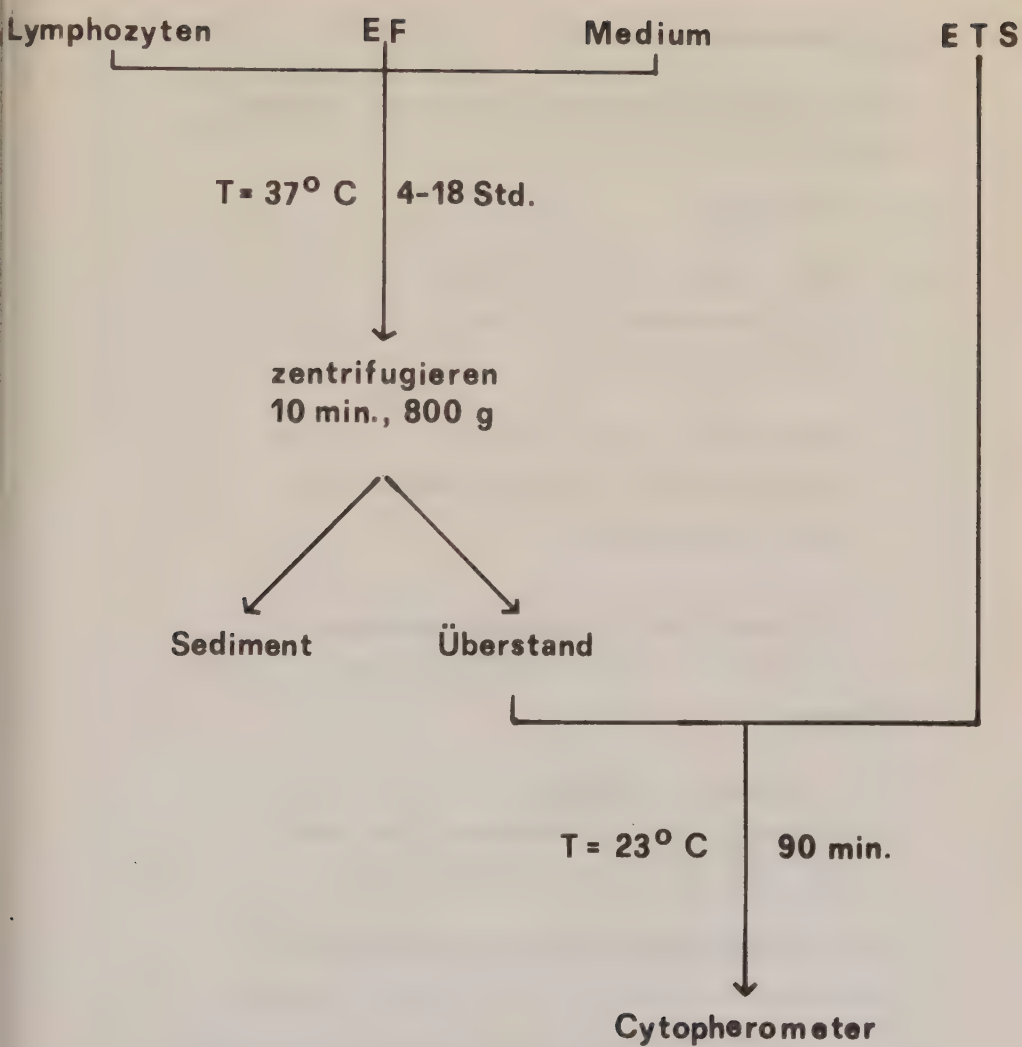


Abb. 2 nach PORZSOLT, TAUTZ, AX (52)

VIII) BERECHNUNGEN

1) Die Wanderungszeit eines ETS wird nach folgender Formel berechnet:

$$t = \frac{2 a (b - a)}{b}$$

a: Wanderungszeit für die Strecke 1 = 1000 um
im Netzmikrometer des Mikroskops bei 400-
facher Vergrößerung.

b: Wanderungszeit für die Strecke 1 = 2000 um
im Netzmikrometer des Mikroskops bei 400-
facher Vergrößerung.

2) Der Mittelwert und die Standardabweichung wird
für jede Probe aus den Wanderungszeiten der einzelnen
ETS berechnet.

3) Zur Signifikanzberechnung (Student-Test) wird
der Mittelwert und die Standardabweichung jeder
Probe mit denen des 0-Standards verglichen.

4) Die % slowing der ETS der Probe gegenüber den
ETS des 0-Standards wird nach der Formel berechnet:

$$\% \text{ slowing} = \frac{(\text{Mittelwert der Wan-}) - (\text{Mittelwert der Wande-})}{\text{Mittelwert der Wanderungszeit (0-Standard)}} \times 100$$

(derungszeit (Probe)) - (rungszeit (0-Standard))

Ein positives Vorzeichen des slowing-Wertes in den Ta-
bellen bedeutet, daß die ETS der Probe langsamer wan-
derten als die des 0-Standards.

5) In den Berechnungen für die Graphiken werden slowing-Werte von Proben, die nicht signifikant verschieden vom 0-Standard sind, mit 0 berechnet.

TABELLEN

(+) bedeutet, daß der slowing-Wert sich signifikant vom O-Standard unterscheidet.

(-) bedeutet, daß der slowing-Wert nicht signifikant verschieden vom O-Standard ist.

MASTOPATHIE_I Tabelle 1

	<u>Alter</u>	<u>prä-op</u> <u>% slowing</u>	<u>post-op</u>	<u>Tage</u> <u>(post-op)</u>
1) E. Chr.	24	0,44 (-)	-	-
2) G. M-L.	30	1,64 (-)	1,30 (-)	2
3) D. K.	21	- 11,30 (+)	- 10,10 (+)	2
4) M. L.	27	5,60 (+)	5,85 (+)	2
5) W.H.	35	- 1,80 (-)	3,06 (-)	4
6) M. E.	28	1,75 (-)	3,65 (-)	4

MASTOPATHIE-II-III-Gruppe Tabelle 2

1) K. M.	50	7,55 (+)	-	-
2) L. A.	60	6,08 (+)	0,00 (-)	2
3) M. E.	40	8,84 (+)	13,04 (+)	2
4) M. G.	51	9,35 (+)	7,23 (+)	2
5) B. D.	43	4,25 (+)	6,58 (+)	2
6) Sch. Th.	56	16,27 (+)	6,65 (+)	2
7) E. J.	33	- 7,35 (+)	4,97 (+)	3
8) T. G.	34	10,12 (+)	5,57 (+)	3
9) W. E.	52	9,10 (+)	8,24 (+)	3
10) M. K.	64	9,31 (+)	15,29 (+)	3
11) C. J.	36	12,66 (+)	11,56 (+)	5
12) J. E.	43	11,21 (+)	1,71 (-)	5
13) F. E.	37	10,00 (+)	5,24 (+)	6
14) B. L.	52	13,30 (+)	9,46 (+)	5

HISTOLOGIE: MASTOPATHIE-II-III-Gruppe

Tabelle 3

	Alter	% slowing prä-op	Papillo- matöse Epithel- prolif.	Zell- u. Kernaty- pie	Epitheliöse adenoide Epithel- prolif.
1) K. M.	50	7,55 (+)	(+)		+
2) L. A.	60	6,08 (+)	+	+	+
3) M. E.	40	8,84 (+)	+	+	+
4) M. G.	51	9,35 (+)	++	(+)	++
5) B. D.	43	4,25 (+)	+		+
6) Sch.Th.	56	16,27 (+)	+		+
7) E. J.	33	- 7,35 (+)	(+)		
8) T. G.	34	10,12 (+)	+	(+)	+
9) W. E.	52	9,10 (+)	++	+	+
10) M. K.	64	9,31 (+)	+		
11) C. J.	36	12,66 (+)	+		+
12) J. E.	43	11,21 (+)	+		++
13) F. E.	37	10,00 (+)	(+)		+
14) B. L.	52	13,30 (+)			++

Ca in situ

Tabelle 4

	<u>Alter</u>	<u>prä-op</u> % slowing	<u>post-op</u>	<u>Tage</u> <u>(post-op)</u>
1) G. A.	71	2,13 (-)	- 2,42 (-)	3
2) N. K.	68	12,84 (+)	5,54 (+)	4

Karzinome

Tabelle 5

	<u>Alter</u>	<u>prä-op</u> <u>% slowing</u>	<u>post-op</u>	<u>Tage</u> <u>(post-op)</u>
1) K. E.	62	8,95 (+)	- 11,64 (+)	2
2) M. L.	73	15,29 (+)	6,82 (+)	2
3) G. L.	62	11,61 (+)	4,68 (+)	2
4) D. H.	33	6,22 (+)	0,00 (-)	2
5) S. M.	55	15,03 (+)	6,04 (+)	2
6) B. E.	60	- 1,31 (-)	4,40 (-)	2
7) B. R.	50	7,19 (+)	- 13,89 (+)	2
8) J. W.	74	13,15 (+)	4,61 (-)	3
9) G. G.	83	8,19 (+)	5,64 (-)	3
10) V. D.	34	9,72 (+)	6,85 (+)	3
11) W. A.	57	11,59 (+)	0,39 (-)	4
12) Sch.J.	71	2,86 (-)	2,29 (-)	4
13) M. B.	68	5,48 (+)	- 11,40 (+)	5
14) D. E.	55	13,81 (+)	5,16 (-)	5
15) W. K.	58	16,76 (+)	16,95 (+)	6
16) R. M.	54	- 2,32 (-)	- 24,85 (+)	6
17) S.A-W.	73	15,06 (+)	10,49 (+)	6
18) K. H.	42	1,11 (-)	-	-

HISTOLOGIE

Tabelle 6

<u>Ca in situ</u>	<u>Alter</u>	<u>(prä-op)</u> <u>%slowing</u>	<u>Histologie</u>	<u>Metastasen</u>
1) G.A.	71	2,13 (-)	präinvasives cribrif. Milchgangs- Ca	
2) N.K.	68	12,84 (+)	präinvasives lobuläres Ca	

Karzinome

Tabelle 7

	<u>Alter</u>	<u>(prä-op)</u> <u>%slowing</u>	<u>Histologie</u>	<u>Metastasen</u>
1) K. E.	62	8,95 (+)	scirrh. Ca	
2) M. L.	73	15,29 (+)	Ca solid./scirrh.	
3) G. L.	62	11,61 (+)	Paget-Ca	Lymphknoten
4) D. H.	33	6,22 (+)	Ca solid./infiltr. cribrif. Ca	
5) S. M.	55	15,03 (+)	Ca solid./scirrh.	
6) B. E.	60	- 1,31 (-)	Ca solid./scirrh. lobul. Ca in situ	
7) B. R.	50	7,19 (+)	scirrh. Ca	
8) J. W.	74	13,15 (+)	scirrh. Ca	Lymphknoten
9) G. G.	83	8,19 (+)	scirrh. Ca	Lymphknoten
10) V. D.	34	9,72 (+)	infiltr. cribrif. Ca	
11) W. A.	57	11,59 (+)	scirrh. Ca	
12) Sch. J.	71	2,86 (-)	Gallert-Ca	Lymphknoten
13) M. B.	68	5,48 (+)	scirrh. Ca	Lymphknoten
14) D. E.	55	13,81 (+)	Ca scirrh./ cribrif.	Lymphknoten
15) W.K.	58	16,76 (+)	scirrh. Ca	Lymphknoten
16) R. M.	54	- 2,32 (-)	scirrh. Ca	Lymphknoten
17) S. A-W.	73	15,06 (+)	Ca solid./scirrh.	
18) K. H.	42	1,11 (-)	Cytologie Pap. V	Lymphknoten Leber

NORMALPERSONEN

Tabelle 8

	<u>Alter</u>	<u>Geschlecht</u>	<u>% slowing</u>
1) N. M.	27	w	- 27,50 (+)
2) M. G.	23	w	- 8,70 (+)
3) K. Dr.	32	m	0,00 (-)
4) A. W.	35	m	- 5,60 (+)
5) N. M.	26	w	- 2,66 (-)
6) V. M.	25	w	2,12 (-)
7) Sch. W.	32	m	4,02 (-)
8) Sch. M.	19	w	- 8,16 (+)
9) P. A.	19	w	1,55 (-)
10) U. H.	19	m	- 18,20 (+)
11) A. V.	19	m	- 6,66 (+)
12) H. E.	20	m	- 31,25 (+)
13) E. Chr.	19	w	1,94 (-)
14) R. K.	19	m	4,11 (-)
15) B. Dr.	28	m	4,71 (-)
16) Sch. K-H.	19	m	2,88 (-)
17) L. W.	20	m	- 5,50 (+)
18) W. W.	19	m	1,30 (-)
19) D. H.	21	m	3,80 (-)
20) V. B.	19	m	3,50 (-)

Wertetabellen für die Graphiken:

M : Mittelwert

St: Standardabweichung

n : Zahl der Einzelwerte

P : Signifikanz

Prä-op. Werte: Tabelle 9

	M	St	n
Ca (mit falsch neg. Werten)	8,78	5,81	18
Ca (ohne falsch neg. Werte)	11,29	3,77	14
Mastopathie II-III	8,62	4,50	14
Mastopathie I	- 0,95	5,59	6
Normalpersonen	- 5,57	9,24	20

prä-op. Werte / post-op. Werte: Tabelle 10

	M	St	n
<u>Ca</u>			
prä-op	11,29	3,70	14
post-op	1,07	8,74	14

P: signif.

Mastopathie II - III

	M	St	n
prä-op	10,03	3,2	12
post-op	7,40	4,62	12

P: nicht signif.

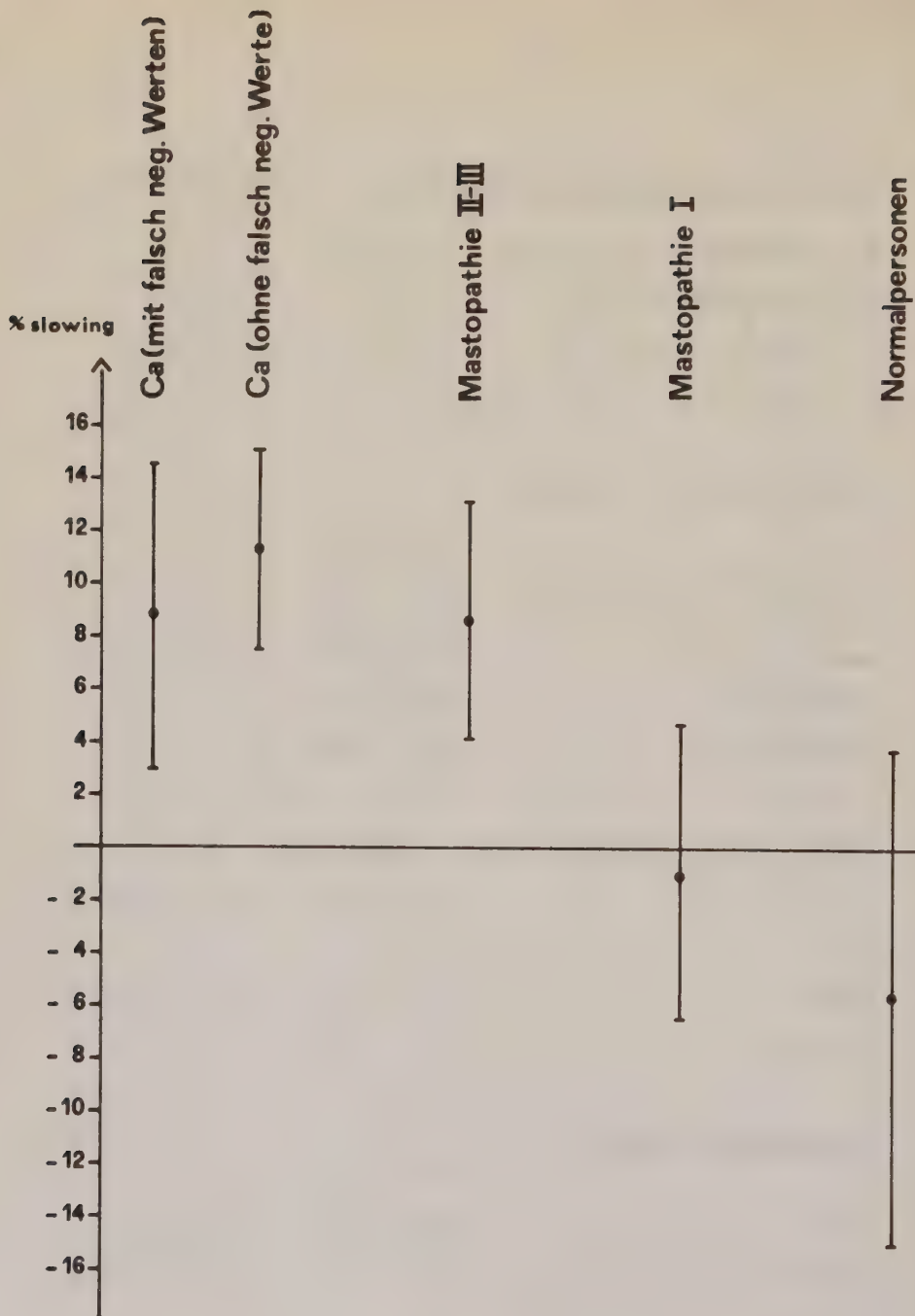
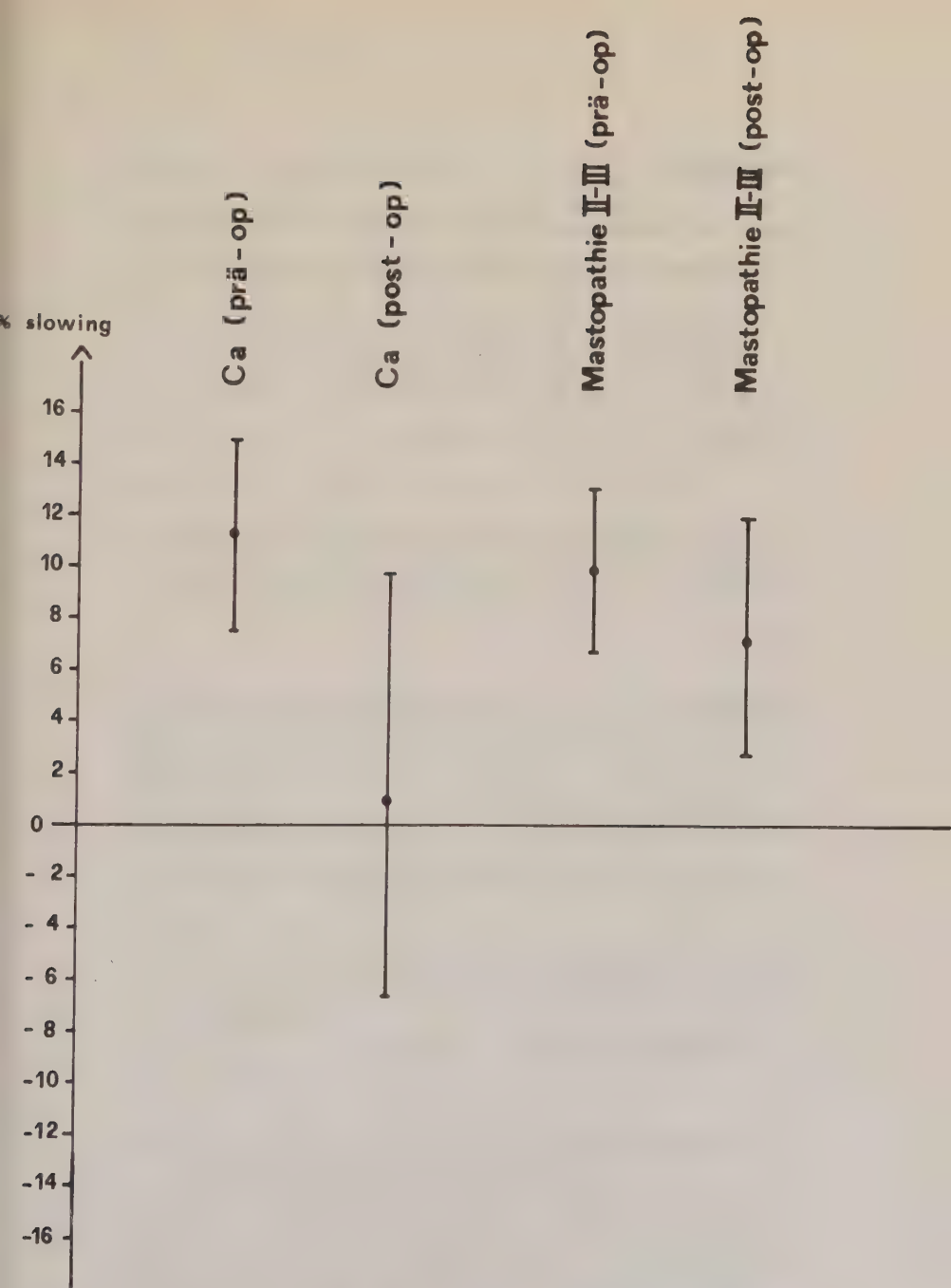


Abb.3 ERGEBNISSE DES EMT BEI PRÄ-OPERATIVEN
UNTERSUCHUNGEN
(MITTELWERT UND STANDARDABWEICHUNG)



**Abb. 4 VERGLEICH DER PRÄ- UND POSTOPERATIVEN
ERGEBNISSE IM EMT
(MITTELWERT UND STANDARDABWEICHUNG)**

ERGEBNISSE

Nach dem Schweregrad der histologischen Befunde werden die Patientinnen in 4 Gruppen eingeteilt:

- 1) Mastopathie - I - Gruppe
- 2) Mastopathie - II - III - Gruppe
- 3) Ca in situ Gruppe
- 4) Karzinom-Gruppe

Der Gruppeneinteilung liegt die histomorphologische Einteilung der Mastopathien nach PRECHTEL zugrunde: (53, 54).

Mastopathie I bedeutet eine auf das Alter bezogene, ungewöhnliche Hyperplasie, Hypoplasie bzw. Atrophie des Parenchyms mit oder ohne Fibrose und Dysplasie des Gang-Läppchensystems, aber jeweils ohne intraduktale bzw. intraduktuläre Epithelproliferation.

Bei der Mastopathie II treten Dysplasien auf, die zusätzliche Epithelproliferationen des Gang-Läppchensystems ohne Atypien zeigen.

Zur Mastopathie III werden Veränderungen gezählt, die atypische kanalikuläre oder lobuläre Zellwucherungen zeigen. (Die Mastopathie III entspricht der komplizierten oder proliferierenden Mastopathie nach BÖHMIG (3)).

Die Ca in situ unterscheiden sich von den Mastopathien III durch ihren höheren Atypiegrad und durch Auflösung des zweischichtigen Milchgangepithels und werden deshalb getrennt aufgeführt. Zu den anerkannten intraepithelialen Vorstadien oder Präkanzerosen werden das intraduktale Ca vom Komidotyp, das intraduktale papilläre Ca und das präinvasive lobuläre Ca gerechnet (68). Nach ACKERMAN und del REGATO werden die präinvasiven Ca als Typ I in der Gruppeneinteilung der Mamma-Ca nach Malignitätsgraden bezeichnet (1).

1) Prä-operative Untersuchungen

(Tab. 1 - 9 Graphik Abb. 3)

a) Bei Patientinnen der Mastopathie - I - Gruppe treten (mit einer Ausnahme) Ergebnisse auf, wie sie auch bei jungen gesunden Vergleichspersonen gefunden werden: die ETS wandern nicht signifikant langsamer oder signifikant schneller als die des 0-Standards.

(Tab. 1 Graphik Abb. 3)

b) Mastopathie II und Mastopathie III

werden in einer Gruppe zusammengefaßt, da mit dem Auftreten von intraduktalen bzw. intraduktulären Epithelproliferationen (mit einer Ausnahme) sich die Ergebnisse so verhalten wie in der Ca-Gruppe:

es tritt eine gegenüber dem 0-Standard signifikante Verlangsamung der ETS der Proben auf.

(Tab. 2, 3 Graphik Abb. 3).

c) Falsch negative Ergebnisse in der Karzinom-Gruppe ergeben sich in Fällen von Metastasierung und / oder großer Ausdehnung des Karzinoms.

d) Die Ca in situ - Gruppe ist auf Grund der geringen Fallzahl (2) statistisch nicht verwertbar. In einem Fall ergibt sich ein positives, in einem Fall ein negatives Ergebnis (Tab. 4, 6).

2) Postoperative Untersuchungen

(Tab. 1 - 10 Graphik Abb. 4).

Beim Vergleich der prä- und postoperativen Reaktivität (2. bis 6. postoperativer Tag) der Lymphozyten gegen EF werden nur die Werte in der Karzinom-Gruppe und Mastopathie-II - III - Gruppe berücksichtigt, in denen sich eine präoperative Sensibilisierung der Lymphozyten gegen EF gezeigt hat . (In der Karzinom-Gruppe entfallen damit die Werte Nr. 6, 12, 16, 18, in der Mastopathie-II - III - Gruppe Nr. 7).

a) In der Karzinom-Gruppe ist ein deutlicher postoperativer Abfall der Lymphozytenreaktivität festzustellen. In 8 von 14 Fällen läßt sich postoperativ

eine Sensibilisierung von Lymphozyten gegen EF
im Cytopherometer nicht mehr nachweisen.

b) In der gesamten Mastopathie- II - III - Gruppe
ist der postoperative Abfall der Lymphozyten-
reaktivität nicht signifikant. Bei 2 von 12 Fällen
läßt sich postoperativ keine Sensibilisierung nach-
weisen. In 3 von 12 Fällen liegt der postoperative
Wert höher als der präoperative.

DISKUSSION

I) Allgemeines

Nach der BURNETschen Immunüberwachungstheorie (immune surveillance) beruht das Entstehen maligner Tumoren auf einem Versagen der immunkompetenten T-Lymphozyten (4). Eine Aufgabe der T-Lymphozyten scheint darin zu bestehen, neoplastische Zellen als fremd zu erkennen und zu zerstören, ehe sich ein Tumor entwickeln kann. In der Verminderung der absoluten Zahl von T-Lymphozyten bei älteren Menschen wird eine Erklärung für deren erhöhte Anfälligkeit gegenüber Karzinomen und Infektionen gesehen (14).

Zum Nachweis der zellgebundenen Immunität gegen Tumorantigen soll der EMT (bzw. MEM-Test) dienen, in dem basisches Myelinprotein EF als Antigen verwendet wird, das antigene Verwandtschaft mit Tumorantigen besitzen soll (24).

Im EMT (bzw. MEM-Test) wird die Wanderungsgeschwindigkeit jeweils eines Indikatorpartikels im elektrischen Feld im Zellelektrophoresegerät (= Cytopherometer) gemessen, die u.a. von der Oberflächenladung des Partikels abhängig ist. Die Oberflächenladung wird durch den sog. slowing factor

verändert (52), der von Lymphozyten, die gegen EF sensibilisiert sind, produziert wird. Die Methode der Zellelektrophorese wird von SACHTLEBEN, RUMEN-STROTH-BAUER et al. (62, 63, 64) 1961 beschrieben. Sie untersuchten z. B. die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit von roten und weißen Blutzellen und konnten dabei für einige Krankheitsbilder (chron. Myelose, akute Myelose, Lymphadenose, Lymphogranulomatose u.a.) "charakteristische Hämozytopherogramme" aufstellen.

Die Entwicklung des MEM-Testes beruht darauf, daß CASPARY und FIELD (20) bei der Suche nach einem Test zur Diagnostik der Multiplen Sklerose fanden, daß Lymphozyten von Patienten mit malignen Tumoren in gleicher Weise mit EF reagieren wie die von Patienten mit Multipler Sklerose. Andere Arbeitsgruppen (33, 34, 36, 39, 40, 44, 45, 55, 56) bestätigen die Ergebnisse und bemühen sich, den Untersuchungsgang zu vereinfachen: PRITCHARD (57) modifiziert einzelne Untersuchungsschritte (MOD-MEM-Test).

Anstelle von Makrophagen werden tannierte, sulfosalizylsäure-stabilisierte Hammelerythrozyten als Indikatorzellen verwendet (PORZSOLT, TAUTZ, AX (52)).

Werden hypertone KCl-Extrakte aus verschiedenem Tumorgewebe als Antigen benutzt, so ergeben Untersuchungen (48) "typische immunologische Tumorprofile, die exakte Rückschlüsse auf den Sitz des Primärtumors gestatten".

Gegen EF sensibilisierte Lymphozyten produzieren einen sog. slowing factor, den CASPARY und FIELD macrophage slowing factor (= MSF) nennen. Da korrelierende Ergebnisse zwischen MEM-Test und MIF-Test (= migration inhibition test) erzielt worden sind (32, 55), ist die Hypothese aufgestellt worden, daß MSF (macrophage slowing factor) und MIF (migration inhibition factor) entweder identisch sind oder wenigstens gemeinsame aktive Komponenten enthalten.

Der EMT (bzw. MEM-Test) läßt bei Verwendung von EF als Antigen keine Rückschlüsse zu auf das Stadium und die Lokalisation des malignen Tumors (Karzinom oder Sarkom), auf den Grad der Metastasierung und den Erfolg chirurgischer Behandlung (20, 24). Noch Jahre nach erfolgreicher chirurgischer Behandlung soll sich im MEM-Test eine Sensibilisierung von Lymphozyten gegen EF nachweisen lassen (20). Positive Ergebnisse (24) treten (außer bei Ca und Ca in situ (20, 39, 51)) auf in Fällen von parenchymatöser Zerstörung des ZNS, Sarcoidose, Colitis

ulcerosa, M. CROHN, Asthma (9), offener Lungen-tuberkulose, Asbestose, temporär bei Influenza und Masern (25). Negative Ergebnisse ergeben sich bei Leukämie und bei Menschen, deren zelluläre Immunabwehr geschädigt ist (23).

Bei positiven Ergebnissen im EMT, bei denen ein maligner Tumor klinisch noch nicht nachweisbar ist und eine der oben genannten Erkrankungen auszuschließen ist, ergibt sich die Frage, ob mögliche Vorverlaufsstadien maligner Tumoren im EMT erfassbar sind (51). In der vorliegenden Arbeit soll diskutiert werden, ob Korrelationen zwischen der Schweregradeinteilung der Mastopathien nach PRECHTEL und den Ergebnissen im EMT (und damit der Erfassbarkeit von möglichen Übergangsstadien) bestehen.

Nach STEGNER (68) ist das Bild der Mastopathien durch eine große Anzahl verschiedener metaplastischer und dysplastischer sowie proliferativer und regressiver Veränderungen am Drüsenparenchym gekennzeichnet, die als Folgezustände einer endokrinen Dysregulation anzusehen seien. Die Östrogene überwiegen unter den Sexualhormonen, KLEIBEL (42) spricht von einer "hypoandrogenen Hyperöstrogenie". KLEIBEL (41) betont, daß eine exakte morphologische Definition nicht einfach ist. STEGNER glaubt, daß sich das Mamma-Ca aus Dysplasien und Atypien umschriebener

Epithelbezirke der Lobuli und Milchgänge entwickle, welche anhand zytologischer und histologischer Kriterien erkennbar seien und nach unterschiedlich langer Latenzzeit in ein invasives Ca übergingen.

Bisher besteht keine eindeutige Klarheit darüber, inwieweit ein ursächlicher Zusammenhang zwischen Mastopathie und Mamma-Ca besteht. PRECITEL versucht, eine histomorphologische Einteilung der Mastopathien in 3 Schweregrade durchzuführen und gleichzeitig das Entartungsrisiko des jeweiligen Schweregrades anhand einer retrospektiven Studie darzustellen:

Mittleres Entartungsrisiko der Mastopathie. Literaturübersicht von 7321 bioptisch gesicherten Fällen (nach PRECHTEL, 1972) (entnommen aus 41).

Mastopathie	Beobach- tungszeit in Jahren	Manifestes Karzinom der- selben Seite %	Faktor des Entartungs- risikos
Ohne Diffe- renzierung	1 - 28	24,7	1,76
I (nicht pro- liferierend)	2 - 14	1,2	0,83
II (proliferie- rend ohne Atypie	1 - 20	3,4	2,43
III (proliferie- rend mit Atypie	2 - 23	44,0	31,43
Allgemeines Mamma- Karzinomrisiko der Frau		1,4	1,00

DIAGNOSE	FALLZAHL	PROZENT
Mastopathie I	761	70,0
Mastopathie II	231	21,2
Mastopathie III	96	8,8

(entnommen: (53))

Der Vergleich der Histologie mit den Ergebnissen im EMT ergibt:

II) Prä-operative Ergebnisse im EMT in der
"Mastopathie" - Gruppe

(Tab. 1 - 3 Graphiken Abb. 3)

Mit dem Auftreten von Epithelproliferationen (Mastopathie-II - III - Gruppe) ergeben sich im EMT (mit einer Ausnahme) positive Ergebnisse. Die Proliferationstendenz des Epithels, die lichtmikroskopisch nach dem Zellverband und der Zellstruktur als "benigne" befundet wird, könnte als erster Schritt in Richtung autonomes Wachstum gedeutet werden, das entweder zum Stillstand kommen oder in unterschiedlicher Geschwindigkeit fortschreiten und zur Entartung führen könnte. Möglicherweise liegen Veränderungen in den Zellen vor, die lichtmikroskopisch noch nicht erfaßbar sind, von der zellulären Immunabwehr aber schon als fremd erkannt werden. Das würde bedeuten, daß Unterschiede zwischen der histologischen Struktur und dem biologischen Verhalten des Gewebes bestehen.

In Anbetracht des z. T. höheren Alters der Patientinnen müßte auch an einen bisher klinisch noch nicht erfaßten oder erfaßbaren Tumor an anderer Stelle gedacht werden. (Auf das Vorliegen von Er-

krankungen, die im EMT zu einem positiven Ergebnis führen, ergaben sich keine Hinweise).

III) Prä-operative Ergebnisse im EMT in der Karzinom-Gruppe

(Tab. 5, 7 Graphik Abb. 3)

Die Lymphozyten von Ca-Patientinnen sind mit 4 Ausnahmen gegen EF sensibilisiert. Falsch negative Ergebnisse treten in den Fällen Nr. 6, 12, 16, 18 auf. Es handelt sich dabei um ausgedehnte, z. T. in die regionären Lymphknoten metastasierte Tumoren, die schon klinisch eindeutig malignitätsverdächtig sind. Lebermetastasen und Aszites liegen bei der Patientin Nr. 18 vor. Patientin Nr. 12 hat ein kleintomatengroßes Gallert-Ca, das bereits in die regionären Lymphknoten metastasiert ist. Gallert-Ca stellen hochdifferenzierte Tumoren dar, die i. a. eine geringere Wachstums- und Metastasierungsgeschwindigkeit zeigen. Die beträchtliche Ausdehnung und Metastasierung im vorliegenden Fall könnte auf eine zusätzliche Entartung und auf eine stark beeinträchtigte Immunabwehr hinweisen. In früheren Studien zeigen CASPARY und FIELD (22), daß bei weit fortgeschrittenen malignen Tumoren eine verminderte Reaktivität der Lymphozyten gegen EF auftritt. Diese Erscheinung führen CASPARY und FIELD einerseits auf das Auftreten eines Serumfaktors mit

immunsuppressivem Effekt (LDF = lymphocyte depressive factor) (30) zurück, (vgl. auch (11, 38, 60)), andererseits auf die Bindung von sensibilisierten Lymphozyten durch das Tumorgewebe, so daß bei ausgedehnten Tumoren weniger sensibilisierte Lymphozyten im peripheren Blut vorhanden sind. Bei den vorliegenden Versuchen soll durch mehrmaliges Waschen der isolierten Lymphozyten mit HANKS-Lösung das Serum und Serumfaktoren entfernt werden, so daß der Einfluß von LDF auf das Versuchsergebnis vernachlässigt werden kann und nur die Zahl sensibilisierter Lymphozyten wichtig zu sein scheint. Bei den vorliegenden Ergebnissen wird nicht in allen Fällen von großer Ausdehnung und Metastasierung ein negatives Ergebnis gefunden. Dies mag ein Hinweis darauf sein, daß in den Fällen der falsch negativen Ergebnisse eine besonders starke Verminderung der Zahl von sensibilisierten Lymphozyten im peripheren Blut vorhanden ist, die vielleicht auf bisher noch nicht in Erscheinung getretene Metastasierung in Lymphknoten, Lunge oder Knochen oder auf eine starke Immunsuppression zurückzuführen ist.

Für die negativen Ergebnisse könnte auch das sog. Enhancement-Phänomen (61) verantwortlich sein, das darauf beruht, daß humorale Antikörper, die im Rahmen der Tumormunität entstehen, die an der Oberflächen-

membran von Tumorzellen lokalisierten tumorspezifischen Antigene blockieren und so die Erkennung durch Immunzellen und damit deren Sensibilisierung verhindern.

Die Patientin Nr. 6 ist seit 15 Jahren in neurologischer Behandlung. Die "Interaktion von halluzinogenen Drogen mit EF", die zu einer verminderten Reaktivität der Lymphozyten gegen EF führt, wiesen CASPARY und FIELD nach (7). Im vorliegenden Fall könnten die über Jahre verabreichten Neuropharmaka für das negative Ergebnis verantwortlich sein.

IV) Vergleich der prä- und postoperativen Reaktivität von Lymphozyten in der Mastopathie-II-III-Gruppe und der Ca-Gruppe

(Tab. 2, 5 Graphik Abb. 4)

In der Ca-Gruppe ergibt sich nach chirurgischer Behandlung durch Mamma-Amputation und in den Fällen Nr. 3, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16 durch zusätzliche Extirpation von vergrößerten axillären Lymphknoten ein signifikanter postoperativer Abfall der Lymphozytenreaktivität. In 53,1 % der Fälle der Ca-Gruppe ist eine postoperative Sensibilität der Lymphozyten gegen EF im EMT nicht nachweisbar. PARK et al. (50) beschrieben ähnliche Ergebnisse bei der Testung der

postoperativen Lymphozyten-Reaktivität gegen Mitogene. Nach VOSE und MOUDGIL (69), die die postoperative Cytotoxizität von Lymphozyten gegen Tumorzellen bestimmten, tritt eine verminderte Reaktivität bereits zwei Stunden nach chirurgischer Behandlung ein; eine Reaktion läßt sich nach ungefähr einer Woche wieder nachweisen.

COCHRAN et al. (12, 13) fanden im Leukozyten-Migrationstest, daß die Sensibilität gegen Tumorextrakt nach einem postoperativen Intervall von 6 bis 22 Tagen in den meisten Fällen zurückkehrt.

Zahlreiche Vermutungen über die postoperativ veränderte Lymphozyten-Reaktivität werden angestellt: es wird z. B. eine reversible Hemmwirkung von Anästhetika auf die Lymphozyten-Funktion angenommen (49), jedoch lassen sich keine Unterschiede feststellen im Verhalten der Lymphozyten von Patienten, deren Operationsdauer Minuten oder Stunden beträgt (12). Auch der Einfluß eines unter Stress ansteigenden Plasma-Cortisol-Spiegels kann bisher nicht überzeugend mit der postoperativen Verminderung der Transformierbarkeit von Lymphozyten durch einen Mitogenreiz korreliert werden (31).

In der Mastopathie-II-III-Gruppe sind die Ergebnisse uneinheitlich, es lassen sich drei Reaktionstypen

unterscheiden: 1) postoperativer Abfall, 2) postoperativer Anstieg der Lymphozytenreaktivität, 3) in 16,6 % der Fälle eine postoperativ nicht-meßbare Lymphozytenreaktivität.

Die Tatsache, daß in der Mastopathie-II-III-Gruppe in nur 16,6 % der Fälle (gegenüber 53,1 % der Fälle der Ca-Gruppe) eine postoperative Lymphozyten-Sensibilisierung nicht nachweisbar ist, könnte so zu erklären sein, daß mit der Mamma-Amputation und (in einigen Fällen) der Lymphknotenentfernung eine große Zahl sensibilisierter Lymphozyten, die sich in diesen Geweben angesammelt haben, verloren gehen. Bei "Mastopathie"-Operationen wird nur ein kleines Gewebstück für die histologische Untersuchung entnommen, so daß der Pool sensibilisierter Lymphozyten nicht wesentlich verkleinert wird. Das zurückgebliebene Mastopathie-Gewebe kann weiter als antigener Reiz wirken, die Lymphknoten bleiben geschont. Die Bedeutung der regionären Lymphknoten in der Immunabwehr von Tumorzellen scheint auf Grund der Versuche von ELLIS (18) erheblich zu sein; danach sprechen Lymphozyten aus regionären Lymphknoten stärker auf Krebsantigen an als Lymphozyten des peripheren Blutes.

Die verstärkte postoperative Reaktivität bei 25 % der Fälle in der Mastopathie-II-III-Gruppe könnte

auf einer Einschwemmung sensibilisierter Lymphozyten aus dem Gewebe in die Blutbahn beruhen, bedingt durch die Operation.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird im EMT die Reaktivität von Lymphozyten gegen EF als Antigen von nicht ausgewählten Patientinnen untersucht, die wegen eines verdächtigen Befundes an der Mamma zur operativen Abklärung in die Klinik kamen. Die Ergebnisse des EMT werden mit den postoperativen histologischen Befunden verglichen. Die Mastopathien werden nach PRECHTEL in 3 Schweregrade eingeteilt.

Von 18 Ca-Patientinnen reagieren die Lymphozyten positiv mit Ausnahme von 4 Fällen, in denen ein sehr weit fortgeschrittenes Ca vorliegt.

Die Lymphozyten von 14 Patientinnen der Mastopathie-II-III-Gruppe reagieren mit einer Ausnahme positiv. Bei 6 Patientinnen der Mastopathie-I-Gruppe ergibt sich mit einer Ausnahme ein negatives Ergebnis im EMT.

Nur negative Ergebnisse im EMT treten bei 20 gesunden Vergleichspersonen auf.

Die Reaktivität von Lymphozyten gegen EF zwischen dem 2. und 6. postoperativen Tag wird bestimmt. In vielen Fällen läßt sich postoperativ eine immunologische Suppression von Lymphozyten nachweisen. Der Mechanismus müßte genauer untersucht werden und damit die Möglichkeit der Entstehung von Metastasen während der Zeit der postoperativ verminderten Immunabwehr.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ACKERMAN, L.V.: Cancer: Diagnosis, treatment and prognosis.
3. Aufl., Mosby, St. Louis 1962
- 2) BECHT, H.: Properties of erythrocytes stabilized with sulfosalicylic acid and their use in an indirect haemagglutination test with influenza virus RPN-antigen.
J. Immunology 101, 18, 1968
- 3) BÖHMIG, B.: Mastopathia fibrosa cystica, ihre Epithelproliferation und deren Beziehungen zum Karzinom.
Erg. all. Path. path. Anat. 45, 39, 1964
- 4) BURNET, F.M.: Self and not-self.
University Press, Melbourne, 1969
- 5) BUSTIN, M., D. TEITELBAUM, C. WEBB:
Immunological comparison of basic encephalitogen and histone F2A1
Eur. J. Biochem. 53, 615-621, 1975
- 6) CARNEGIE, P.R.: Properties, structure and possible neuroreceptor role of the encephalitogenic protein of human brain.
Nature, Vol. 229, 25-28, 1971

- 7) CARNEGIE, P.R., J.R. SMYTHIES, E.A. CASPARY, E.J. FIELD:
Interaction of hallucinogenic drugs
with encephalitogenic protein of
myelin.
Nature, Vol. 240, No. 5383, 561-563,
1972
- 8) CASPARY, E.A., E.J. FIELD:
Specific lymphocyte sensitization in
cancer: Is there a common antigen
in human malignant neoplasia ?
British Medical Journal 613-617, 1971
- 9) CASPARY, E.A., E.L. FEINMANN, E.J. FIELD:
Lymphocyte sensitization in asthma
with special reference to nature and
identity of intrinsic form.
British Medical Journal 1, 15-16, 1973
- 10) COATES, A.S., P.R. CARNEGIE:
Immunological cross-reactivity
between basic proteins of myelin
and cancer.
Clin. exp. Immunol. 22, 16-21, 1975
- 11) COOPERBAND, S.R., H. BONDEVIK, K. SCHMID, J.A. MANNICK:
Transformation of human lymphocytes:
inhibition by homologous alpha
globulin.
Science, 159, 1243, 1968

- 12) COCHRAN, A.J., W.G.S. SPILG, R.M. MACKIE, C.E. THOMAS:

Postoperative depression of tumour-directed cell-mediated immunity in patients with malignant disease.
British Medical Journal, 4, 67-70,
1972

- 13) COCHRAN, A.J., C.E. THOMAS, W.G.S. SPILG, R.M. GRANT,
D.E. CAMERON-MOWAT, R.M. MACKIE, G. LINDOP:

Tumor-directed cellular immunity in malignant melanoma and its modification by surgical treatment.
Yale Journal of Biology and Medicine
46, 650-654, 1973

- 14) DIAZ-JOUANEN, E., R.G. STRICKLAND, R.C. WILLIAMS:

Studies of human lymphocytes in the newborn and the aged.
The American Journal of Medicine,
Vol.58, 620-628, 1975

- 15) DICKINSON, J.P., E.A. CASPARY, E.J. FIELD:

Localization of tumor specific antigen on external surface of plasma membrane.
Nature New Biology, Vol. 239, 181-183, 1972

- 16) DICKINSON, J.P., E.A. CASPARY:

The chemical nature of cancer basic protein.
Br. J. Cancer 28, Suppl. I 224 -
228, 1973

17) DICKINSON, J.P., E.A. CASPARY, E.J. FIELD:

A common tumour specific antigen.

Br. J. Cancer 27, 99-105, 1973

18) ELLIS, R.J. et al.:

Immunologic competence of regional lymph nodes in patients with breast cancer.

Cancer 35, 655, 1975

19) ENGLISH, D., B.R. ANDERSEN:

Single-step separation of red blood cells, granulocytes and mononuclear leukocytes on discontinuous density gradients of Ficoll-Hypaque.

Journal of Immunological Methods 5, 249-252, 1974

20) FIELD, E.J., E.A. CASPARY:

Lymphocyte sensitisation: an in-vitro test for cancer ?

The Lancet, 1337-1341, 1970

21) FIELD, E.J., R.T.H. SHEPHERD:

Immundiagnosis of cancer.

Br. Med. J., 641, 1972

22) FIELD, E.J., E.A. CASPARY:

Lymphocyte sensitization in advanced malignant disease: a study of serum lymphocyte depressive factor.

Br. J. Cancer 26, 164-173, 1972

- 23) FIELD, E.J., E.A. CASPARY, K.S. SMITH:

Macrophage electrophoretic mobility
(MEM) test in cancer:
a critical evaluation.
Br. J. Cancer 28, Suppl. I, 208-
214, 1973

- 24) FIELD, E.J.:

Macrophage electrophoretic migration
(MEM) test in cancer.
Immunological Techniques for Detection
of Cancer, The Folksam Symposium,
Copyright Bonniers, Stockholm,
Sweden 1973

- 25) FIELD, E.J., E.A. CASPARY, B.K. SHENTON, H. MADGWICK:

Lymphocyte sensitization after
exposure to measles, and influenza,
Journal of the neurological Sciences,
19, 179-187, 1973

- 26) FIELD, E.J., B.K. SHENTON, G. JOYCE:

Specific laboratory test for diag-
nosis of multiple sclerosis.
British Medical Journal 1, 412-414,
1974

- 27) FIELD, E.J., B.K. SHENTON:

The macrophage electrophoretic mobi-
lity (MEM) test: a consideration of
the practical difficulties and appli-
cations of the method. IRCS Journal of
Medical Science, Vol. 3, 583-587, 1975

- 28) FIELD, E.J., B.K. SHENTON, H.J. MEYER-RIENECKER,
H.L. JENSSEN, H. KÖHLER, J.K. GÜNTHER, H. FRIEMEL:
Die Makrophagen-Elektrophorese-
Mobilitäts- (MEM) Methode:
ihre Anwendung in der klinischen
Immunologie.
Dt. Gesundheits-Wesen 30, H. 8,
377-383, 1975
- 29) FRIEMEL, H.: Immunologische Arbeitsmethoden.
VEB Gustav Fischer Verlag Jena 1976
- 30) FORD, W.H., E.A. CASPARY, B. SHENTON:
Purification and properties of a
lymphocyte inhibition factor from
human serum.
Clin. exp. Immunol. 15, 169-179, 1973
- 31) GIERHAKKE, F.W., R. JOHANNSEN, R. STÖCKER, L. RICK-
MEYER, K.P. EBERT, W. MEYER-HOEPFEL, I. MEYER-HOEPFEL:
Immunsuppressive Wirkungen bei
Operationen und Möglichkeiten ihrer
Begrenzung.
Immunität und Infektion 3, Nr. 3,
116-124, 1975
- 32) HUGHES, D., E.A. CASPARY, E.J. FIELD:
Delayed hypersensitivity studies in
experimental allergic encephalomye-
litis; a comparison of macrophage
migration inhibition test and
electrophoretic mobility.
Z. Immun.-Forsch. Bd. 141, 14-19, 1970

- 33) IRMSCHER, J., M. MÜLLER, R. FISCHER, G. OTTO,
M. STRIETZEL: Makrophagen-Elektrophorese-Mobili-
täts-Test (MEM) zur immunologischen
Diagnose maligner Geschwülste.
Dt. Gesundh.-Wesen 30, H. 15, 1975
- 34) JENSSEN, H.L., H. KÖHLER, J. GÜNTHER, H. MEYER-
RIENECKER: Diagnostic test for multiple sclerosis.
British Medical Journal, 407, 1974
- 35) JENSSEN, H.L., B.K. SHENTON:
Electrophoretic mobility test for
lymphocyte sensitization using tanned
sheep erythrocytes.
Acta biol. med. germ. 34, K. 29 -
K 32, 1975
- 36) JENSSEN, H.L., H. KÖHLER, J. GÜNTHER, B. KLAUSCH,
W. STRAUBE, R. HOFMANN, H.H. BÜTTNER:
Macrophage electrophoretic mobility
(MEM) test in malignant gynaecologi-
cal diseases.
Arch. Gynäk. 220, 191-198, 1976
- 37) JOHNS, E.W., J.A.V. PRITCHARD, J.L. MOORE, W.H.
SUTHERLAND, C.A.F. JOSLIN, J.A. FORRESTER, A.J.S.
DAVIES, A.M. NEVILLE, R.G. FISH:
Histones and cancer test.
Nature, Vol. 245, 99, 1973

- 38) KAMRIN, B.B.: Successful skin homografts in mature non-littermate rats treated with fractions containing alpha-globulins.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 100, 58, 1959
- 39) KLAUSCH, B., R. HOFMANN, W. STRAUBE, H.L. JENSSEN, H. KÖHLER, J. GÜNTHER:
Experiences with the macrophage electrophoretic mobility test for malignant gynaecological diseases.
Excerpta Medica, Amsterdam, 305-309, 1974
- 40) KLAUSCH, B., W. STRAUBE, R. HOFMANN, H.H. BÜTTNER, H.L. JENSSEN, H. KÖHLER, J. GÜNTHER:
Erfahrungen mit dem Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-Test (MEM-Test) bei der Diagnostik maligner gynäkologischer Erkrankungen.
Zbl. Gynäk. 97, 529-539, 1975
- 41) KLEIBEL, F.: Beziehungen der Mastopathie zum Brustkrebs.
Therapiewoche 52, 7824-7828, 1975
- 42) KLEIBEL, F.: Pathogenese und Therapie der Mastopathie.
Therapiewoche 26, 6923-6930, 1976

- 43) LEWKONIA, R.M., E.J.L. KERR, W.J. IRVINE:

Clinical evaluation of the macrophage electrophoretic mobility test for cancer.

Br. J. Cancer 30, 532, 1974

- 44) MEYER-RIENECKER, H., H.L. JENSSEN, H. KÖHLER, J. GÜNTHER, H.J. GUNDLACH:

Zur Anwendung und Bedeutung des Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitäts-(MEM)-Testes bei neurologischen Erkrankungen.

Klin. Wschr. 52, 288-292, 1974

- 45) MEYER-RIENECKER, H., H.L. JENSSEN, H. KÖHLER, J.K. GÜNTHER: Zur Bedeutung des Makrophagen-Elektrophorese-Mobilitätstests für die Diagnostik der Geschwülste des Zentralnervensystems.

Dtsch. med. Wschr. 100, 538-543, 1975

- 46) MINDERHOUD, J.M., J.K. SMITH:

Immunological activity of blood lymphocyte fractions.

Clin. exp. Immunol. 10, 571-579, 1972

- 47) MÜHLBERGER, G., F. PORZSOLT, W. AX:

Sind potentielle Präkanzerosen zellelektrophoretisch erkennbar ? Vortrag auf der 147. Tagung der mittelhheinischen Gesellschaft für Geburtshilfe u. Gynäkologie vom 19. - 20.4.1975 in Heidelberg

- 48) MÜLLER, M., J. IRMSCHER, R. FISCHER, H. GROSSMANN:
Immunologisches Tumorprofil.
Dt. Gesundh.-Wesen 30, H. 39,
1836-1842, 1975
- 49) NUNN, J.F., J.A. SHARP, K.L. KIMBALL:
Reversible effect of an inhalational
anaesthetic on lymphocyte mobility.
Nature, 226, 85, 1970
- 50) PARK, S.K., J.I. BRODY, H.A. WALLACE, W.S. BLAKEMORE:
Immunosuppressive effect of surgery.
Lancet I, 53, 1971
- 51) PORZSOLT, F., G. MÜHLBERGER, W. AX:
Electrophoretic mobility test (EMT):
is there a correlation between the
clinical diagnosis and immunologic
test for precancerous disease ?
Behring Inst. Mitt., No. 57,
137-146, 1975
- 52) PORZSOLT, F., CH. TAUTZ, W. AX:
Electrophoretic mobility test:
Modifications to simplify the de-
tection of malignant diseases in man.
Behring Inst. Mitt. No. 57,
128-136, 1975

- 53) PRECHTEL, K.: Beziehungen der Mastopathie zum Mammakarzinom.
Fortschritte der Medizin, Nr. 2, 43-45, 1972
- 54) PRECHTEL, K., M. PÖSCHL:
Erläuterungen zur Morphologie der Mastopathie und der Mamma-Verkalkungen für die Röntgenuntersuchung der Mamma.
Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und Nuklearmedizin, Bd. 118, H. 4, 455-466, 1973
- 55) PREECE, A.W., P.A. LIGHT:
The macrophage electrophoretic mobility (MEM) test for malignant disease.
Clin. exp. Immunol. 18, 543-552, 1974
- 56) PRITCHARD, J.A.V., W.H. SUTHERLAND, J.L. MOORE, C.A.F. JOSLIN: Macrophage-electrophoretic-mobility (MEM) test for malignant disease.
Lancet, 627-629, 1972
- 57) PRITCHARD, J.A.V., J.L. MOORE, W.H. SUTHERLAND, C.A.F. JOSLIN: Evaluation and development of the macrophage electrophoretic mobility (MEM) test for malignant disease.
Br. J. Cancer 27, 1-9, 1973

- 58) PRITCHARD, J.A.V., J.L. MOORE, W.H. SUTHERLAND,
C.A.F. JOSLIN: Clinical assessment of the MOD-MEM
cancer test in controls with non-
malignant diseases.
Br. J. Cancer 34, 1-6, 1976
- 59) RIDDLE, P.R., M.C. BERENBAUM:
Postoperative depression of the
lymphocyte response to phytohaemag-
glutinin.
The Lancet I, 746-748, 1967
- 60) RIGGIO, R.R., G.H. SCHWARTZ, K.H. STENZEL, A.L. RUBIN:
Alpha-2-hyperglobulinemia as a humoral
indicator of the homograft reaction.
The Lancet I, 1218, 1968
- 61) ROITT, I.: Essential immunology.
Blackwell Scientific Publications 1974
- 62) RUHENSTROTH-BAUER, G., G.F. FUHRMANN:
Zellelektrophoretische Untersuchungen
an menschlichen Blutzellen.
Blut, Bd. VIII, 464-469, 1962
- 63) RUHENSTROTH-BAUER, G., G.F. FUHRMANN, E. GRANZER,
W. KÜBLER, F. RUEFF:
Elektrophoretische Untersuchungen an
normalen und malignen Zellen.
Naturwissensch., H. 16, 363-368, 1962

- 64) SACHTLEBEN, P., G.F. FUHRMANN, E. STRAUB,
G. RUHENSTROTH-BAUER:

Fortschritte in der Methodik der
Zellelektrophorese.

Klin. Wschr. 39, 839, 1961

- 65) SHAW, A., G. ETTIN, T.A. Mc PHERSON:

Responses of cancer patients in the
MEM test: not just a function of
charge on basic proteins.

Br. J. Cancer 34, 7-13, 1976

- 66) SHENTON, B.K., D. HUGHES, E.J. FIELD:

Macrophage electrophoretic migration
(MEM) test for lymphocyte sensi-
tization: some practical experiences
in macrophage selection.

Br. J. Cancer 28, Suppl. I, 215, 1973

- 67) SINGER, A., J. SHELTON, S. HILL:

Cellular immunity to human basic
myelin protein in women with
dysplasia and carcinoma in situ of
the cervix.

Br. J. of Obstetrics and Gynaecology,
Vol. 82, 820-825, 1975

- 68) STEGNER, H.E.:

Histopathologie des Mammakarzinoms
und seiner Vorstadien.

Therapiewoche 26, 2276, 1973

69) VOSE, B.M., MOUDGIL, G.C.:

Effect of surgery on tumour-directed
leucocyte responses.

Br. Medical Journal 1, 56-58, 1975

Lebenslauf

Gabriele Martina Walch, geb. am 3.6.1951 als Tochter
des Arztes Dr. Werner Walch und seiner Frau Helene,
geb. Ebertheld.

1957 - 1961: Grundschule in Lemgo-2

1961 - 1969: neusprachliches Marianne-Weber-Gymnasium
in Lemgo

am 6.6.69: Reifeprüfung

Studium:

WS 69/70-SS 71: Naturwissenschaften an der Philipps-
Universität in Marburg

1971: Zwischenprüfung in den Fächern Chemie,
Biologie, Physik für höheres Lehramt

WS 71/72-WS 72/73:

Humanmedizin in Marburg

1973: Physikum

SS 73-WS 73/74: Klinisches Jahr am akademischen Lehr-
krankenhaus in Kassel

SS 74-SS 76: Beendigung des klinischen Studiums
in Marburg

am 3.8.1976: medizinisches Staatsexamen in Marburg

Seit Okt. 1976: Medizinalassistentin

Meine akademischen Lehrer waren in Marburg:

Amon, Berndt, Bohle, Braasch, Buchholz, Buchholtz,
Castenholz, Cleffmann, Dehnicke, Dittrich, Dombrowski,
Eissner, Eschenbach, Exner, Golenhofen, Haberich,
Hamelmann, Hardewig, Havemann, Hensel, Hering, Hilde-
brandt, Hilgermann, Jacob, Kaffarnik, Kalbfleisch,
Karlson, Kessel, Klamberg, Klaus, Kleinsasser, Koecke,
Koransky, Linneweh, Ludwig, Maroske, Martini, Nultsch,
Petry, Pfeil, Remane, Remschmidt, Rohen, Schleyer,
Schneider, F., Sekeris, Siegert, Solcher, v. Stosch,
Straub, Stuke, Vogel, Walcher, Wendt, Willenbockel.

in Kassel:

Aust, Beckmann, Giebel, Heinecker, Kreutz, Krokowski,
Pfau, Suchenwirth, Voss, Wepler, Wildhirt, Wolf,
Wulf, Zinganell.

Herrn Dr. med. habil. Mühlberger danke ich für die Überlassung des Themas.

Herrn Prof. Dr. Ax danke ich für die unermüdliche Hilfe bei theoretischen und praktischen Schwierigkeiten, für den Arbeitsplatz im Labor und die Übernahme des Correferates.

Den Behring-Werken in Marburg danke ich für den Arbeitsplatz und das Überlassen der Materialien.

Herrn Prof. Dr. Kalbfleisch (Patholog. Institut Marburg) danke ich für viele Auskünfte bezüglich der Histologie.

Frau Krauß, Frl. Schäfer, Frl. Schottler und Herrn Sandonato (Behring-Werke) danke ich für die Hilfe bei praktischen Schwierigkeiten, Frau Krauß für das Anfertigen der Graphiken, Herrn Langhoff (Gießen) für Blutabnahmen.

Die Blutproben kamen aus der Frauenklinik Marburg (Direktor Prof. Dr. Buchholz), der Chirurgischen Universitätsklinik Gießen (Prof. Gierhake), der gynäkologischen Abteilung des Diakoniekrankenhauses Wehrda (Dr. Bauer, Dr. Troeltsch). Die histologische Befundung erfolgte im pathologischen Institut der Universität Marburg (Direktor Prof. Dr. Hort) und dem

Zentrum für Pathologie der Universität Gießen
(Direktor Prof. Dr. Kracht).

Nicht zuletzt danke ich den Patientinnen und Versuchspersonen, durch deren Blutspende die Arbeit erst möglich wurde.

